

TRANSZFORMÁCIÓS ÉS TOVÁBBI MOLEKULÁRIS MÓDSZEREK ALKALMAZÁSA AZ *AMPELOMYCES* HIPERPARAZITA GOMBÁK BIOLÓGIÁJÁNAK TANULMÁNYOZÁSÁRA

Doktori értekezés tézisei

NÉMETH Z. MÁRK

ELTE TTK Biológia Doktori Iskola
Iskolavezető: Prof. Erdei Anna

Kísérletes Növénybiológia Doktori Program
Programvezető: Prof. Kovács M. Gábor

Témavezetők:
Prof. Kiss Levente
University of Southern Queensland, Ausztrália
ATK Növényvédelmi Intézet

Prof. Kovács M. Gábor
ELTE TTK, Biológiai Intézet, Növénysszervezettani Tanszék
ATK Növényvédelmi Intézet

Készült az ATK Növényvédelmi Intézetében

Budapest
2020

BEVEZETÉS

A lisztharmat az egyik leggyakrabban előforduló növénybetegség. Az *Ampelomyces* nemzetségbe tartozó piknídiumos gombák a lisztharmatgombák gyakori mikoparazitái, melyek képesek a lisztharmatgombák konídiumaiba és hifáiba belenőni [1]. A parazitált lisztharmat-kolóniák továbbra növekedhetnek, de sporulációjuk mértéke csökken [2], vagy teljesen leáll [3]. A lisztharmatgombák gazdanövényei között sok gazdaságilag fontos termesztett faj található [4]. Ennek megfelelően különböző *Ampelomyces*-törzsek biofungicid-készítmények részeként forgalomba kerültek [5].

Az *Ampelomyces* nemzetség taxonómiai viszonyai nem tisztázottak. A nemzetségbe tartozó törzsek között jelentős genetikai változatosság figyelhető meg és különböző leszármazási vonalak különíthetők el, amelyek feltehetően külön fajokat jelentenek [6]. A formálisan leírt *Ampelomyces*-fajok azonban nem felelnek meg a molekuláris filogenetikai csoportosításoknak. Néhány esetben ugyan annak a fajnak több publikált neve is létezik. Mindezek miatt a nemzetség taxonómiai revíziója szükséges [6], a fajok elkülönítéséhez multilokus filogenetikai elemzések szükségesek [7].

Az *Ampelomyces*-ekkel mindig lisztharmattal asszociáltként lehet találkozni a természetben, ezért a gazdaszervezet nélküli potenciális előfordulásuk lehetősége érdekes és vitatott felvetés. Nem ismert, hogy mi történik a lisztharmattal nem fertőzött levelekre természetes módon kerülő, vagy biokontroll szer formájában mesterségesen kijuttatott *Ampelomyces* konídiumokkal. Az *Ampelomyces*-törzsek mikoparazita folyamatot követő levélhullás utáni követése azért lehet szükséges, hogy láthassuk, mi történik ezekkel a törzsekkel, miután kifejtették biokontroll funkciójukat. Az *Ampelomyces*-törzsek táptalajon fenntarthatók, sőt, sok esetben ún. szaprotróf stádiumban is képeznek piknídiumokat [pl. 8], ezért nem zárható ki, hogy szaprotróf szervezetekként fennmaradjanak (pl. a talajban, talajon, növényi részekben stb.). A korábbi mikológiai szakirodalom adatai szerint az *Ampelomyces*-törzsek képesek a növényi levelekben való szaprotróf növekedésre [9], sőt piknídiumképzésre is [10].

A fluoreszcens fehérjékkel való transzformációval lehetséges a mikoparaziták vizualizációjának megkönnyítése [11]. A fluoreszcens fehérjét expresszáló gombatörzsek előállításához elengedhetetlen egy transzformációs rendszer. Mivel sok gombafaj esetén az *Agrobacterium*-közvetítette transzformálás (ATMT) számít az alapvető transzformációs módszernek [12], feltételezhető, hogy használható *Ampelomyces*-törzsek transzformánsainak előállítására.

A transzformációs módszer birtokában lehetségessé válik funkcionális genetikai vizsgálatok elindítása is. Az *Ampelomyces*-törzsekben való célzott génkiütés lehetőségének teszteléséhez a nitrát-reduktáz gént jelöltük ki, mivel érdekes a nitrátredukáló rendszer megléte az *Ampelomyces*-törzsekben, hiszen a lisztharmatgombákban redukált nitrogénformákhoz jutnak [13], azaz a legismertebb életterükben nincs szükségük nitrátredukálásra.

Az *Ampelomyces*-képletek jelenléte legtöbbször nem látható szabad szemmel és mikroszkóppal is csak bizonyos gyakorlattal észlelhető. Az *Ampelomyces*-törzsek előfordulási gyakoriságának gyors és előismereteket nem igénylő mérésére egy kvantitatív PCR (qPCR)-alapú módszert dolgoztak ki [14], amellyel molekuláris úton, DNS alapján, gyorsan kimutatható a mikoparazita jelenléte. Ennek alkalmazásához szükség van egy objektív módszerrel megalapozott diagnosztikai határértékre, amelynek segítségével a mintákról eldönthető, hogy tartalmazznak-e *Ampelomyces*-DNS-t.

CÉLKITŰZÉSEK

(1) Célunk volt az *Ampelomyces* nemzetségbe tartozó 120 törzs négy lókuszának szekvenciáival molekuláris filogenetikai vizsgálatokat végezni és ezek alapján olyan monofiletikus csoportokat elkülöníteni, amelyek formálisan leírható fajok lehetnek, valamint az általunk elkülönített kládokban az *Ampelomyces*-törzsek gazdagomba-asszociációját vizsgálni.

(2) Az *Ampelomyces*-törzsek gazdagombáikban, valamint lisztharmatmentes környezetben való megfigyelésének megkönnyítése érdekében célunk volt két *Ampelomyces*-törzs zöld fluoreszcens fehérje (GFP) génnel való transzformációja, a transzformánsok vad típussal való összehasonlítása, valamint annak tesztelése, hogy a szelektált transzformánsokban a GFP expressziója a mikoparazitizmus során is stabilan fennmarad-e.

(3) Célunk volt, hogy a GFP-t expresszáló transzformánsokkal funkcionális kísérleteket végezzünk, melyek során megvizsgáljuk, hogy (i) mennyi ideig képesek a transzformánsok lisztharmatmentes leveleken túlélni, (ii) mi történik a kialakult *Ampelomyces*-struktúrákkal, amikor a lisztharmattal fertőzött levelek szeneszcens fázisba kerülnek, és (iii) a transzformánsok mutatnak-e bármilyen szaprotróf növekedést talajon.

(4) Az *Ampelomyces* spp. funkcionális genetikai vizsgálataihoz célunk volt annak tesztelése, hogy lehetséges-e ezen gombákban a homológ rekombináción alapuló génkiütés megvalósítása. Ehhez célul tűztük ki a nitrát-reduktáz gén kiütését egy *Ampelomyces*-

törzsben, a transzformánsok különböző nitrogénforrású táptalajokon mutatott fenotípusának vizsgálatát és annak tesztelését, hogy a gén kiütése hatással van-e a törzs mikoparazita képességére.

(5) Célunk volt egy, az *Ampelomyces* spp. DNS alapú detektálására alkalmas qPCR-módszer diagnosztikai határértékének meghatározása, amely alapján a tesztelt mintáról eldönthető, hogy tartalmaz-e *Ampelomyces* DNS-t.

ANYAG ÉS MÓDSZER

***Ampelomyces*-törzsek molekuláris filogenetikai vizsgálata**

Öt új törzset izoláltunk, majd a törzsekből való DNS-izolálást követően, korábbi munkákból rendelkezésre álló DNS-izolátumokat is felhasználva négy lókuszt (nukleáris riboszomális RNS (rRNS) régiójának *internal transcribed spacer* (ITS), az aktin (*ACT1*) gén, az RNS-polimeráz II legnagyobb alegységét kódoló gén (*RPB1*) és a nitrát-reduktáz (*EukNR*)) egy-egy szakaszát szaporítottuk fel PCR módszerrel, majd szekvenáltattuk. A szekvenciákat a MAFFT 7-es verziójával [15] illesztettük, majd egy egyesített adatsort állítottunk elő, amelynek hossza 2933 karakter, amelyből 39 az indel karakter. A *maximum likelihood* alapú filogenetikai vizsgálatokat a raxmlGUI 1.5 [16, 17] szoftverrel, a Bayes-statisztikán alapuló elemzést a MrBayes 3.1.2 [18] szoftverrel végeztünk.

***Ampelomyces*-törzsek transzformációja ATMT módszerrel, a transzformánsok jellemzése**

Két kiválasztott *Ampelomyces*-törzs (RS1-a és GYER) GFP génnel való transzformációját korábban közölt protokollok [19] alapján végeztük. Szelekciót követően tizenhárom transzformánst választottunk ki a további vizsgálatokhoz. Ezekből genomi DNS-t izoláltunk. A T-DNS beépülésének igazolására annak két fragmentjét szaporítottuk fel PCR módszerrel. A transzformánsokba épült T-DNS kópiaszámának meghatározásához qPCR-t alkalmaztunk. A tizenhárom transzformáns telepmorfológiáját és táptalajon való szaprotróf növekedési képességét a vad típusú törzsekével hasonlítottuk össze, törzsenként nyolc ismételtsben négy hét elteltével megmérve a képződött telepek területét.

Kísérletek a GFP-t kifejező transzformánsokkal

Az RS1-a törzs hét transzformánsával mikoparazita teszteket végeztünk, ehhez a telepekből konídium-szuszpenziót készítettünk, majd lisztharmattelepekre permeteztük. A telepeket tíz nap elteltével hagyományos megvilágítású és fluoreszcens mikroszkópban vizsgáltuk. A kísérletekben öt lisztharmatgomba-fajt (*Podosphaera xanthii* uborkán, *Erysiphe necator*

szőlőn, *Blumeria graminis* árpán, *Pseudoidium neolycopersici* paradicsomon és *Leveillula taurica* paprikán) használtuk; hét *Ampelomyces* transzformánssal végeztünk mikoparazita teszteket összesen 15 különböző kombinációban. Az RS1-a vad típus és az RS1-a transzformánsok mikoparazita képességének összehasonlításához meghatároztuk az egységnyi lisztharmattelepben képződött intracelluláris piknídiumok számát [20].

Egy további kísérletben két RS1-a transzformáns és a vad típus konídiumszuszpenzióit juttattuk autoklávozott virágföldre, majd hét és 30 nap elteltével néhány talajszemcsét tárgylemezre helyeztük és mikroszkóppal vizsgáltuk.

A harmadik kísérletben cserépben nevelt uborkanövényekre inokuláltuk a transzformánsok és a vad típusú törzs konídiumszuszpenzióit, majd a növényeket 4-21 nappal később lisztharmattal inokuláltuk, annak vizsgálatára, hogy a levelekre juttatott *Ampelomyces* transzformánsok képesek-e a gazdagombájukkal való közvetlen kapcsolat nélkül túlélni, és ha igen, mennyi ideig. A friss lisztharmattelepeket tíz nappal az inokuláció után vizsgáltuk mikroszkóppal hagyományos megvilágítású, illetve DIC üzemmódban, a transzformánsok GFP-expresszióját pedig epifluoreszcens módban.

Egy másik kísérlet során uborkalevelek *P. xanthii*-val fertőzött, két *Ampelomyces* transzformáns képleteit tartalmazó részeit helyeztük a növények tövébe a cserepekben lévő talajra. Három-hat naponta két-négy levéldarabot kiemeltünk a cserepekből és mikroszkóppal vizsgáltuk. Mindegyik kísérletet legalább két ismétlésben végeztük el.

Célzott génkiütés megvalósítása az RS1-a *Ampelomyces*-törzsben

A célzott génkiütéshez használandó plazmid előállításához az élesztő rekombinációs klónozás módszerét [21, 22] alkalmaztuk. A transzformánsokban PCR-módszerrel bizonyítottuk a célzott génkiütés megtörténtét. A transzformánsok *EukNR* gén kiütése következtében kialakuló fenotípusát azok nitrogénmentes, valamint nitrátot, illetve redukált nitrogénforrást tartalmazó táptalajokra oltásával tettük láthatóvá. Egy *knock-out* transzformáns mikoparazitizmusának mértékét összehasonlítottuk a vad típusával.

Az *Ampelomyces*-DNS jelenlétének kimutatására alkalmas qPCR módszer diagnosztikai határértékének meghatározása

Egy *Ampelomyces*-törzs ITS szakaszát amplifikáltuk, majd vektorba klónoztuk (TOPO TA Cloning Kit). *Podosphaera plantaginis* lisztharmatgombával fertőzött levelekből, illetve kontrollként lisztharmat- és *Ampelomyces*-mentes környezetben nevelt lándzsás útifű levelekből és gyökerekből izoláltunk DNS-t. A növényi és a lisztharmat DNS-t is tartalmazó

DNS-kivonattal hígítva tízszeres plazmid hígítási sort készítettünk és ezekkel a mintákkal futtattunk qPCR-t.

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELEÉSÜK

Az Ampelomyces-törzsek filogenetikai viszonyai és gazdagomba-asszociációja

Munkánk során összesen 206 új szekvenciát határoztunk meg; összesen 120 törzs bevonásával, négy lókuszt alapján, ~2900 karakter alapján végeztünk filogenetikai elemzéseket. Az *Ampelomyces* nemzetség taxonómiai revíziójának megalapozásához felhasznált törzsek és a karakterek viszonylag magas száma lehetővé teszi, hogy az elemzések alapot adjanak a nemzetség fajainak elkülönítéséhez és a későbbi formális taxonómiai leírásához. A filogenetikai elemzések során a vizsgált *Ampelomyces*-törzsek összesen tíz, jól elkülönülő, magas támogatottsági értékekkel rendelkező kládba sorolódtak. Ezek alapján a nemzetségben tíz, tudományra új faj formális leírása javasolható. Az egyes kládokra nem jellemző a szűk gazdaspecifitás, mivel adott kládokba több különböző lisztharmatgombafajból is kerültek törzsek, vagy a kládok egyes törzseiről bizonyított, hogy más lisztharmatgombafajokat is képesek megfertőzni. Az egyes *Ampelomyces*-kládok gazdagombához való bizonyos mértékű asszociáltsága eredményeink szerint azonban nem zárható ki.

GFP-transzformáció és a transzformánsok jellemzése, a transzformánsokkal végzett kísérletek

A GFP-t kifejező *Ampelomyces*-transzformánsok létrehozásához (és a nitrát-reduktáz hiányos transzformánsok létrehozásához) az ATMT-t alkalmazzuk. Más munkákban [23] tapasztaltakhoz hasonló hatékonyságot értünk el két független transzformációs kísérletben. Az ATMT során létrehoztunk higromicin B rezisztens és fluoreszkáló, GFP-t expresszáló törzseket. A transzgének genomban való meglétét PCR-rel és szekvenálással bizonyítottuk. A qPCR mérések szerint a transzformáns törzsek közül hét egy kópiában tartalmazza az inzertet. Négy transzformáns esetén kettő, és egy esetben három kópiában épült be az inzert.

A transzformánsok kolóniának morfológiája nem tért el a vad típusú törzsekétől. A növekedési tesztek szerint a vizsgált tizenhárom transzformánsból öt növekedése szignifikánsan eltért a vad típus növekedésétől. A tesztelt transzformánsok és a vad típus mikoparazita képességének mértékében nem találtunk szignifikáns különbséget.

A különböző lisztharmatokkal végzett mikoparazita tesztekben megmutatkozott, hogy az intracelluláris *Ampelomyces*-képletek, elsősorban a lisztharmatgomba-hifákban,

konídiumtartókban és konídiumokban található intracelluláris hifák sokkal jobban vizualizálhatók, mint hagyományos, DIC vagy fáziskontraszt optikával.

A liztharmatmentes levelek inokulációja után a tesztelt transzformánsok konídiumainak csírázását és hifáik növekedését lehetett megfigyelni. Szaprotróf piknídiumok nem alakultak ki az inokulált leveleken. A leveleken való *Ampelomyces*-növekedés a vad típus esetében is megfigyelhető volt hagyományos mikroszkópiával, a transzformánsok konídiumainak és hifáinak vizualizációja azonban lényegesen könnyebb volt a fluoreszcens jelnek köszönhetően. Az uborkanövényeken, amelyeket az *Ampelomyces*-szel való inokulálást követően uborkaliztharmattal inokuláltunk, minden esetben találtunk érett *Ampelomyces* piknídiumokat. A transzformánsokra jellemző GFP-expresszió nagyban segítette a mikoparazita megfigyelését a mintákban a vad típus hagyományos mikroszkópiával való megfigyeléséhez képest.

A cserepekbe, a talajra helyezett levéldarabokon a kísérlet időtartama alatt végig megfigyelhetők voltak transzformánsok képletei, az általuk kibocsátott fluoreszcencia intenzitása azonban fokozatosan csökkent. Újonnan képződött, szaprotróf piknídiumok nem voltak láthatók.

Saját eredményeink és irodalmi adatok is azt mutatják, hogy az *Ampelomyces*-törzsek fő élettere gazdagombáik miatt a gazdanövények föld feletti részeihez, vagyis a filloszférához kötődik. A filloszférában elsődlegesen mint liztharmat-mikoparaziták vannak jelen. Kísérleteinkben a gazdagombák jelenléte nélkül nem mutattak sporulációt sem a leveleken, sem a talajon. Lehetséges, hogy a gazdanövények környezetében a gazdagomba nélkül bizonyos ideig fennmaradnak, de a liztharmatgombáktól, mint gazdától független eddig vizsgált élettereket valószínűleg nem képesek huzamosabb ideig elfoglalni a természetben.

Célzott génkiütés megvalósítása az RS1-a törzsben

A PCR-alapú genotipizálás szerint húsból nyolc transzformánsban valóban megtörtént a célzott génkiütés, melyek közül legalább hétben az inzert egy kópiában található meg. A növekedési tesztekben a *knock-out* transzformánsok nitráttartalmú táptalajon és nitrogénforrást nem tartalmazó táptalajon egyaránt gyenge növekedést és sporulációt mutattak, vékony és szétágazó telepeket alakítottak ki. Ez a nitráthiányra jellemző fenotípus, ami azt mutatja, hogy a transzformánsok nem képesek a nitrát hasznosítására.

Az *Ampelomyces* DNS jelenlétének kimutatására alkalmas qPCR módszer diagnosztikai határértékének meghatározása

Az *Ampelomyces* hiperparaziták kimutatására fejlesztett qPCR módszerhez használandó diagnosztikai határérték meghatározására egy analitikai megközelítést [24] alkalmaztunk. Eredményeink szerint a legkisebb mennyiségű, de megbízhatóan kimutatható *Ampelomyces*-DNS-hez (10^4 ITS kópia/ μ l) tartozó Cq átlagérték 24,07 volt. A kidolgozott módszer jövőbeli munkáink során kiegészítheti, vagy helyettesítheti az *Ampelomyces*-képletek mikroszkópos vizsgálatokon alapuló kimutatását.

ÖSSZEFOGLALÁS

120 *Ampelomyces*-törzs négy lókuszon alapuló molekuláris filogenetikai vizsgálata alapján a nemzetségen belül tíz kládot különítettünk el, amelyek alapján új fajok leírása javasolható.

Agrobacterium-közvetítette transzformációval GFP-t kifejező transzformánsokat hoztunk létre, melyek felhasználásával kimutattuk, hogy az *Ampelomyces* konídiumok csíráztak a talajra kerülve és lisztharmatmentes leveleken egyaránt, valamint hogy a leveleken a lisztharmat jelenléte nélkül is életben maradtak és minimum 21 napig képesek voltak az ezt az időszakot követően újonnan kialakuló lisztharmattelepeket is megfertőzni. A transzformánsok vizualizációja a fluoreszcenciájuknak köszönhetően lényegesen meghaladta a vad típusét mikoparazita tesztek és a többi kísérlet során. A mikoparazitizmust követően a levelekkel a talajba kerülve az *Ampelomyces*-képletek minimális növekedést mutattak, piknídiumképzés pedig egyáltalán nem történt.

A nitrát-reduktáz gén kiütésével kimutattuk, hogy az *Ampelomyces*-törzsekben használható a homológ rekombináción alapuló célzott génkiütés. A nitrát-reduktáz hiánya nem befolyásolta a tesztelt transzformáns mikoparazita képességét.

Az *Ampelomyces*-törzsek molekuláris kimutatására fejlesztett módszer finomításához *in vitro* tesztek végeztünk, amelyek alapján a módszer pontosabban használható terepen begyűjtött össz-genomi DNS-mintákból történő detekciós célokra.

A TÉZISEK ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ PUBLIKÁCIÓK

Cikkek

C. Tollenaere, B. Pernechele, H. S. Mäkinen, S. R. Parratt, **M. Z. Németh**, G. M. Kovács, L. Kiss, A. J. M. Tack & A.-L. Laine (2014). A hyperparasite affects the population dynamics of a wild plant pathogen. *Molecular Ecology* 23, 5877–5887. (IF: 5,84, Q1(D1))

M. Z. Németh, A. Pintye, Á. N. Horváth, P. Vági, G. M. Kovács, M. Gorfer, L. Kiss (2019). Green fluorescent protein transformation sheds more light on a widespread mycoparasitic interaction. *Phytopathology* 109, 1404–1416. (IF: 3,264, Q1(D1))

Konferenciaszereplések nemzetközi konferencián

L. Kiss, A. Pintye, **M. Z. Németh**.: How specialized are mycoparasites in a wild tritrophic pathosystem? 2nd International Meeting on Wild Plant Pathosystems, 29-31 August 2016, Helsinki, Finnország.

M. Z. Németh, M. Gorfer, G. M. Kovács, L. Kiss: Intracellular mycoparasitism as a biotic stress for powdery mildews: how to make intruders more visible? *Molecular Biology of Plant Pathogens Conference*, 29-30 March 2017, Durham, Egyesült Királyság.

M. Z. Németh, A. Pintye, M. Gorfer, Á. N. Horváth, G. M. Kovács, L. Kiss. *Ampelomyces* mycoparasites in action - improved visualization of a biocontrol fungus by *Agrobacterium*-mediated transformation. IMC11 International Mycological Congress, 16-21 július 2018, San Juan, Puerto Rico.

Konferenciaszereplések hazai konferencián

Németh Z. M., Gorfer M., Vági P., Kovács M. G., Kiss L.: Hogyan segítheti a GFP transzformálás egy széles körben elterjedt mikoparazita kölcsönhatás tanulmányozását? Magyar Mikrobiológiai Társaság 2016. évi Nagygyűlése és XII. Fermentációs Kollokvium, 2016. október 19-21., Keszthely.

Németh Z. M., Gorfer M., Kovács M. G., Kiss L.: Transzformáció és célzott génkiütés *Ampelomyces* mikoparazitákban. 63. Növényvédelmi Tudományos Napok, 2017. február 21-22., Budapest.

Németh Z. M., Gorfer M., Molnár O., Kiss L., Kovács M. G. Transzformáció és célzott génkiütés *Ampelomyces* mikoparazitákban. Magyar Mikrobiológiai Társaság 2018. évi Nagygyűlése, 2018. október 17-19., Eger.

TOVÁBBI PUBLIKÁCIÓK

Cikkek

Á. Richweisz, **M. Z. Németh**, L. Kiss, T. Érsek (2015). Occurrence of grey mould on *Bucida buceras*, a tree of subtropical origin, under indoor conditions - A disease note. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 50, 1–3.

P. Vági, T. Caffi, K. Z. Váczy, **M. Z. Németh**, L. Kiss (2016). Refining a method for ascospore viability testing in overwintering chasmothecia of *Erysiphe necator*. *European Journal of Plant Pathology* 144, 799–802. (IF: 1,494; Q1)

K. Z. Váczy, **M. Z. Németh**, A. Csikós, G. M. Kovács, L. Kiss (2018). *Dothiorella omnivora* isolated from grapevine with trunk disease symptoms in Hungary. *European Journal of Plant Pathology* 150, 817–824. (IF: 1,478; Q1)

L. Kiss, G. M. Kovács, K. Bóka, G. Bohár, K. Varga Bohárné, **M. Z. Németh**, S. Takamatsu, H. D. Shin, V. Hayova, C. Nischwitz, M. K. Seier, H. C. Evans, P. Cannon, G. J. Ash, R. G. Shivas, H. Müller-Schärer (2018). Deciphering the biology of *Cryptophyllachora eurasiatica* gen. et sp. nov., a cryptic fungal pathogen of an allergenic weed, *Ambrosia artemisiifolia*. *Scientific Reports* 8, 10806. (IF: 4,122; Q1(D1))

L. Frantzeskakis, **M. Z. Németh**, M. Barsoum, S. Kusch, L. Kiss, S. Takamatsu, R. Panstruga (2019) The *Parauncinula polyspora* draft genome provides insights into patterns of gene erosion and genome expansion in powdery mildew fungi. *mBio* 10:e01692-19 1-17. (IF: 6,747; Q1(D1))

Molnár O., **Németh Z. M.**, Horváth N. Á., Matolcsi F., Kovács M. G., Pintye A. (2019) A növénykórokozó gombák DMI-fungicidekkel szembeni rezisztenciájának molekuláris biológiai háttere. *Növényvédelem* 80, 480-492.

P. W. Crous, M.J. Wingfield, L. Lombard, F. Roets, W. J. Swart, P. Alvarado, A. J. Carnegie, G. Moreno, J. Luangsa-ard, R. Thangavel, ... **M. Z. Németh**... & J. Z. Groenewald (2019). Fungal Planet description sheets: 951–1041. *Persoonia* 43, 223–425 (IF: 6,860; Q1(D1)).

A. Pintye, **M. Z. Németh**, O. Molnár, Á. N. Horváth, Zs. Spitzmüller, N. Szalóki, K. Pál, K. Z. Váczy, G. M. Kovács (2020) Improved DNA extraction and quantitative real-time PCR for genotyping *Erysiphe necator* and detecting the DMI fungicide resistance marker A495T, using single ascocarps. *Phytopathologia Mediterranea*, *in press* (IF: 1,974; Q1)

S. Kusch, **M. Z. Németh**, N. Vaghefi, H. M. M. Ibrahim, R. Panstruga, L. Kiss (2020) A short-read genome assembly resource for *Leveillula taurica* causing powdery mildew disease of sweet pepper (*Capsicum annuum*). *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *in press* (IF: 3,649; Q1(D1))

Konferenciaszereplések első szerzőként nemzetközi konferencián

M. Z. Németh, M. Gorfer, G. M. Kovács, L. Kiss: Intracellular mycoparasitism as a biotic stress for powdery mildews: how to make intruders more visible? Molecular Biology of Plant Pathogens Conference, 29-30 March 2017, Durham, United Kingdom.

M. Z. Németh, A. Csikós, Z. K. Váczy, G. M. Kovács, L. Kiss: Grapevine powdery mildew: lessons learned from flag shoot samples. Powdery Mildew Genomics Workshop, 14-15 September 2017, Eger, Hungary.

M. Z. Németh, A. Pintye, M. Gorfer, Á. N. Horváth, G. M. Kovács, L. Kiss. Ampelomyces mycoparasites in action - improved visualization of a biocontrol fungus by *Agrobacterium*-mediated transformation. IMC11 International Mycological Congress, 16-21 July 2018, San Juan, Puerto Rico.

M. Z. Németh, A. Csikós, A. Pintye, Z. K. Váczy, L. Kiss. Identification of genetic groups of *Erysiphe necator* in Hungarian vineyards. IMC11 International Mycological Congress, 16-21 July 2018, San Juan, Puerto Rico.

Konferenciaszereplések első szerzőként hazai konferencián

Németh Z. M., Bóka K., Kovács M. G., Knapp G. D., Seress D., Preininger É.: Egy endofiton gomba interakciója in vitro növényi rendszerekkel. A Magyar Mikroszkópos Társaság Éves Konferenciája, 2014. május 29-31., Siófok.

Németh Z. M., Horváth N. Á., Knapp G. D., Gorfer M., Kovács M. G.: Fluoreszcensen világító gyökérkolonizáló endofiton gomba létrehozása genetikai transzformációval. VI. Magyar Mikológiai Konferencia, 2017. július 3-5., Szeged

Németh Z. M., Kovács M. G. Fungicid-rezisztencia marker kimutatása színreakcióval a szőlőlisztharmat esetében. Eszterházy Károly Egyetem Kutatás-fejlesztés és Innováció Workshop III., 2019. november 29., Eger.

Németh Z. M., Molnár O., Pintye A. Kovács M. G. LAMP: új eszköz a szőlőlisztharmat fungicid-rezisztenciájának kimutatására. 66. Növényvédelmi Tudományos Napok, 2020. február 18.-19., Budapest

IRODALOMJEGYZÉK

- 1 Kiss in *Stress in Yeasts and Filamentous Fungi*. vol. 27, 37-52 (2008).
- 2 Shishkoff & McGrath, *Plant Dis.* **86**, 915-918 (2002).
- 3 Philipp és mtsai, *Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz*, 438-443 (1984).
- 4 Glawe, *Annu. Rev. Phytopathol.* **46**, 27-51 (2008).
- 5 Kiss és mtsai, *Biocontrol Sci. Technol.* **14**, 635-651 (2004).
- 6 Liang és mtsai, *Fungal Divers.* **24**, 225-240 (2007).
- 7 Park és mtsai, *Fungal Biol.* **114**, 235-247 (2010).
- 8 Legler és mtsai, *Eur. J. Plant Pathol.* **144**, 723-736 (2016).
- 9 Emmons, *Bull. Torrey Bot. Club*, 421-441 (1930).
- 10 Yarwood, *Mycologia* **31**, 420-422 (1939).
- 11 Lu és mtsai, *Appl. Environ. Microbiol.* **70**, 3073-3081 (2004).
- 12 Idnurm és mtsai, *Fungal. Biol. Biotechnol.* **4**, 6 (2017).
- 13 Spanu és mtsai, *Science* **330**, 1543-1546 (2010).
- 14 Tollenaere és mtsai, *Mol. Ecol.* **23**, 5877-5887 (2014).
- 15 Katoh & Standley, *Mol. Biol. Evol.* **30**, 772-780 (2013).
- 16 Silvestro & Michalak, *Org. Divers. Evol.* **12**, 335-337 (2012).
- 17 Stamatakis, *Bioinformatics* **30**, 1312-1313 (2014).
- 18 Huelsenbeck & Ronquist, *Bioinformatics* **17**, 754-755 (2001).
- 19 Gorfer és mtsai, *Mycol. Res.* **111**, 850-855 (2007).
- 20 Kiss és mtsai, *Mol. Ecol.* **20**, 1492-1507 (2011).
- 21 Ma és mtsai, *Gene* **58**, 201-216 (1987).
- 22 Joska és mtsai, *J. Microbiol. Methods* **100**, 46-51 (2014).
- 23 Li és mtsai, *FEMS Microbiol. Lett.* **243**, 323-329 (2005).
- 24 Caraguel és mtsai, *J. Vet. Diagn. Invest.* **23**, 2-15 (2011).